



⑪ Veröffentlichungsnummer: **0 570 829 A1**

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑰ Anmeldenummer: 93107728.3

⑸ Int. Cl.⁵: **A61K 37/02, A61K 9/107**

⑹ Anmeldetag: 12.05.93

⑳ Priorität: 18.05.92 DE 4216373

⑬ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
24.11.93 Patentblatt 93/47

⑧ Benannte Vertragsstaaten:
DE FR GB IT

⑦ Anmelder: Dietl, Hans, Dr.
Eichendorffstrasse 33
D-8202 Bad Aibling(DE)

⑦ Erfinder: Dietl, Hans, Dr.
Eichendorffstrasse 33
D-8202 Bad Aibling(DE)

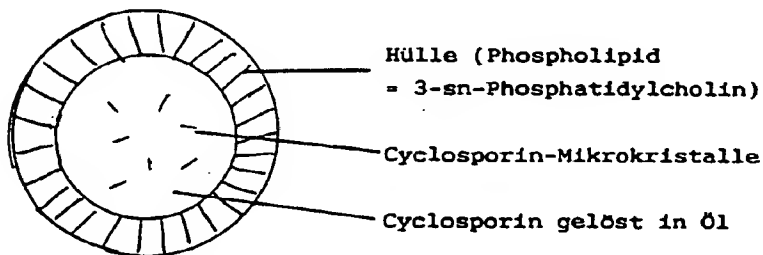
⑦ Vertreter: Reinhard, Skuhra, Weise
Postfach 44 01 51
D-80750 München (DE)

⑤ Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Applikation sowie Verfahren zu ihrer Herstellung.

⑥ Es wird eine pharmazeutische Zubereitung offenbart, die ein oder mehrere Cyclosporin(e), ein oder mehrere natürliche Öle, 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Wasser enthält.

Abbildung 1

Schematische Darstellung der erfindungsgemäßen, Cyclosporin(e) enthaltenden Fettpartikel.



Rank Xerox (UK) Business Services
 (3.10/3.6/3.3.1)

EP 0 570 829 A1

Die Erfindung betrifft eine neue, Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung, ein Herstellungsverfahren für diese pharmazeutische Zubereitung und ihre Verwendung zur intravenösen Applikation.

Cyclosporine sind von Wissenschaftlern der Sandoz AG, Basel entdeckte cyclische Oligopeptide aus niederen Pilzen. Insbesondere Cyclosporin A bzw. Cyclosporin G werden als Immunsuppressiva, insbesondere bei Organ-Transplantationen, eingesetzt. Weiterhin bevorzugt wird das Cyclosporin-Derivat "SDZ IMM 125", ein Hydroxyethylderivat von D-Serin-8-Cyclosporin. Auch die Anwendung bei anderen Erkrankungen, z.B. Diabetes und Psoriasis sowie zahlreichen Autoimmunerkrankungen (z.B. rheumatische Arthritis, endogene Uveitis etc.), wurde beschrieben.

Das bekannteste Cyclosporin ist Cyclosporin A (Formel: $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$).

Aus Pilzen wird Cyclosporin A durch Säulenchromatographie über Kieselgel als weißes amorphes Pulver gewonnen, es kristallisiert aus Aceton in weißen Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 148 - 151 °C. Neben dem Cyclosporin A sind zahlreiche andere Cyclosporine bekannt, die von Cyclosporin A bis Cyclosporin Z reichen (Römpps Chemie Lexikon, 9. Auflage, Seiten 841 - 843). Auch halbsynthetische Derivate des Cyclosporins sind bekannt und erfindungsgemäß einsetzbar. Es handelt sich dabei um chemisch einander sehr ähnliche Substanzen, die aus cyclischen Polypeptiden aus 11 zum Teil methylierten Aminosäuren bestehen. Cyclosporine sind löslich in Alkohol, Äther, Aceton und chlorierten Kohlenwasserstoffen und natürlichen Ölen (Triglyceriden von Fettsäuren).

Cyclosporin A ist zur oralen Anwendung als Lösung zum Einnehmen gelöst in einer Mischung von Alkohol mit einem Pflanzenöl beschrieben und im Verkehr (Pharmakopoeia Martindale, 29th Edition, US Pharm. XXII, 619).

Neben der oralen Einnahme ist insbesondere auch die intravenöse Verabreichung von Cyclosporin A von Bedeutung, da vor allem unmittelbar nach Organ-Transplantationen eine orale Verabreichung nicht möglich ist. Da Cyclosporine in wässrigem Medium unlöslich sind, wird zur intravenösen Verabreichung das Cyclosporin in einem Gemisch aus Alkohol und Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl gelöst, vor der Anwendung mit Kochsalzlösung oder Glucose-Lösung verdünnt und langsam infundiert.

In der United States Pharmacopoeia XXII, 619) wird ein Cyclosporin-Konzentrat zur Injektion beschrieben, bei dem es sich um eine sterile Lösung von Cyclosporin in einer Mischung von Alkohol mit einem geeigneten Pflanzenöl handeln soll. Diese Darreichungsform ist für eine Injektion nicht nur ungeeignet, sondern sogar letal, da es bei Injektion eines Öles in dieser Form sofort zu einer lebensgefährlichen Embolie kommen kann.

Daher befindet sich die intravenös anwendbare Form von Cyclosporin A nur in Form des obigen Konzentrats mit Alkohol und Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl im Verkehr als Sandimmun®-Infusions-Konzentrat. Die zur Lösung von Cyclosporin A verwendeten Hilfsstoffe Alkohol und Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl sind nicht nur keine idealen, sondern sogar gefährliche Hilfsstoffe. Durch den Gehalt an Alkohol besteht (siehe Fachinformation Sandimmun®) ein gesundheitliches Risiko unter anderem bei Leberkranken, Alkoholkranken, Epileptikern, Hirngeschädigten, Schwangeren und Kindern. Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl in Injektions- und Infusionslösungen kann insbesondere bei Personen mit allergischer Krankheitsbereitschaft oder bei Personen, die kürzlich schon ein Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl-haltiges Präparat als Injektion oder Infusion erhalten haben, zu Überempfindlichkeitsreaktionen führen, die sich als Blutdruckabfall, Mangel durchblutung mit Blaufärbung der Lippen und Fingernägel, Luftnot sowie Hitzeanwallung mit zeitlichem Erröten der Haut äußern können. Diese Reaktionen können zeitlich wie auch in ihrem Ausmaß unterschiedlich verlaufen und auch zu lebensbedrohlichen Zuständen führen. Außerdem kann bei längerdauernder Anwendung aufgrund des Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl-Gehaltes eine Erhöhung der Blutfettwerte mit krankhafter Verschiebung des Lipoproteinmusters, eine Beeinträchtigung der Fließeigenschaften des Blutes und der Aggregationsfähigkeit der roten Blutkörperchen auftreten. (Fachinformation von Sandimmun®; Achtung bei Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl in Injektions- und Infusionslösungen, Deutsche Apothekerzeitung 125, 769 (1985), Pharmakopoeia Martindale, 29th Edition (1989), 614 - 619). Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl (z.B. Cremophor® EL) ist ein nichtionischer Emulgator, der durch Umsetzung von 35 Molen Ethylenoxid mit 1 Mol Rizinusöl hergestellt wird. Cremophor EL fällt nicht unter die natürlichen Öle und ist - im Gegensatz zu diesen - in Wasser löslich.

Daher ist es von großer Bedeutung, Cyclosporin-haltige Injektionslösungen bzw. Infusionslösungen zur Verfügung zu haben, die weder Alkohol noch Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl enthalten und die trotzdem Cyclosporin in therapeutisch ausreichender Menge enthalten sowie außerdem gut verträglich sind und ohne die oben beschriebenen Nebenwirkungen verabreicht werden können.

Obwohl diese Probleme seit mehr als zehn Jahren bekannt sind, ist es trotz aller Bemühungen bisher nicht gelungen, eine geeignete Injektionslösung bzw. Infusionslösung mit Cyclosporinen zur intravenösen Anwendung bereitzustellen.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist daher, eine Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung bereitzustellen, welche weder Alkohol noch Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl enthält, und die zur intravenösen Anwendung geeignet ist.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß eine Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung bereitgestellt wird, die ein oder mehrere Cyclosporin(e), ein oder mehrere natürliche Öle, 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Wasser enthält.

Die vorliegende Erfindung löst somit überraschenderweise das Problem der oben beschriebenen Nebenwirkungen, indem eine Cyclosporin-haltige Injektionslösung bzw. Infusionslösung hergestellt wird, in welcher das Cyclosporin in therapeutisch ausreichender Konzentration in einer intravenös anwendbaren Mischung aus natürlichen Triglyceriden und Wasser und 3-sn-Phosphatidylcholinen enthalten ist.

Ein weiterer völlig überraschender Vorteil - neben der Abwesenheit der unverträglichen Hilfsstoffe Alkohol und Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl - besteht in ihrer erhöhten therapeutischen Wirksamkeit mit der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung. Damit kann die Dosis an Cyclosporin(en) vermindert werden und dementsprechend Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, daß das Cyclosporin in der erfindungsgemäßen Darreichungsform in einer Mikrosphäre eines Fettpartikels gelöst ist und dieses Fettpartikel mit dem darin inkorporierten Cyclosporin in einem wesentlichen Umfang direkt an den Ort der Wirksamkeit des Cyclosporins, die Lymphozyten, gelangt. Erst dort wird dann wahrscheinlich die Mikrosphäre des bis dahin intakten Fettpartikels aufgespalten und das Cyclosporin direkt und vollständig am Wirkungsort freigesetzt, während im Gegensatz dazu bei der bisherigen üblichen Darreichungsform Cyclosporin unspezifisch im ganzen Organismus verteilt wird. Bei zahlreichen möglichen Einsatzmöglichkeiten, z.B. bei Diabetes, rheumatischer Arthritis, Psoriasis, andere Autoimmunerkrankungen ist zwar Cyclosporin wirksam, aber wegen der dosisabhängigen Nebenwirkungen in der Anwendung begrenzt. Die erfindungsgemäße Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung schafft die Möglichkeit, Cyclosporin direkt und gezielt an seinen eigentlichen "Wirkungsort", das Immunsystem, zu bringen, wodurch sich die Anwendungsmöglichkeiten erheblich vergrößern können.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Applikation enthält eine therapeutische Menge eines Cyclosporins oder mehrerer Cyclosporine, ein pharmazeutisch verträgliches Öl, 3-sn-Phosphatidylcholin und gegebenenfalls ein Alkalisalz einer freien Fettsäure sowie eine Substanz zur Isotonisierung des Gemisches, z.B. Glycerin und/oder Sorbit und/oder Xylit.

Intravenös verabreichbare Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung sowie Verfahren zu ihrer Herstellung sind aus dem Stand der Technik bekannt (z.B. Deutsche Patentschrift 1249454, British Patent 2406621, DOS 3721137, Europäische Patentschrift 071995, Deutsche Offenlegungsschrift 3032300). In diesen Druckschriften wird die Herstellung von Fettemulsionen unter Verwendung von natürlichen Ölen und Phosphatidylcholinen als Emulgator beschrieben.

Diese Fettemulsionen sind Öl-in-Wasser-Emulsionen, bei denen die Tröpfchengröße der einzelnen Fett-Tröpfchen unter 4 Mikron liegt, damit diese Emulsionen ohne Gefahr einer Embolie infundiert werden können.

Als Öle werden Sojaöl und/oder Distelöl und/oder MCT-Öle (mittelkettige Triglyceride = Kokosöl) verwendet, die Phosphatidylcholine in Form von Sojalecithin und bevorzugt Eilecithin. Die Öle werden in einer wässrigen Lösung emulgiert, wonach man das Gemisch zu einer Emulsion mit einer Partikelgröße von weniger als 4 Mikron homogenisiert (Deutsche Patentschrift 1249454).

Da Cyclosporine in natürlichen Ölen löslich sind, könnte man es als naheliegend betrachten, Cyclosporine einfach in solchen handelsüblichen Fettemulsionen (Handelsnamen: Intralipid®, Lipovenös®, Liposyn®) durch Zugabe von kristallisiertem Cyclosporin zu lösen. Dies gelingt jedoch nicht, da selbst nach intensivem Rühren der weitaus überwiegende Teil des Cyclosporins immer noch in Form ungelöster Kristalle vorliegt. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß das Cyclosporin die Lipid-Hülle nicht durchdringen kann, d.h. ein "Beladen" der Fetttröpfchen der Fettemulsionen nicht möglich ist. Daher erhält man sowohl eine völlig ungenügende, therapeutisch nicht ausreichende Konzentration des Cyclosporins in der Lösung sowie feste Teilchen in der Lösung, die sich bei intravenöser Applikation unter Umständen für den Patienten lebensbedrohlich auswirken können. Obwohl seit langer Zeit die Schädlichkeit der in dem Cyclosporin-haltigen Konzentrat enthaltenen Hilfsstoffe Alkohol und Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl bekannt ist, gelang es bisher nicht, das Problem zu lösen.

Es wurde nun überraschenderweise erfindungsgemäß gefunden, daß es sehr wohl möglich ist, eine intravenös anwendbare Applikationsform von Cyclosporin(en) ohne Alkohol und ohne Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl in Form einer Emulsion von Cyclosporinen in natürlichen, pharmazeutisch verträglichen Ölen, 3-sn-Phosphatidylcholin und Wasser herzustellen. Entscheidend ist dabei, daß das Cyclosporin zunächst vollständig in dem verwendeten Öl gelöst wird, anschließend unter Verwendung von 3-sn-Phosphatidylcholin, bevorzugt in Form von Eilecithin, emulgiert und das Gemisch zu einer Emulsion mit einer Partikelgröße

von weniger als 4 Mikron homogenisiert wird, bevorzugt im Mittel zwischen 0,2 - 0,7 μ m.

Nach dem anschließenden Sterilisieren erhält man eine stabile Injektionslösung bzw. Infusionslösung mit einer therapeutisch anwendbaren Konzentration an Cyclosporin(en).

Als Cyclosporine können natürliche und synthetische Cyclosporine, beispielsweise die bekannten
5 Cyclosporine A - Z verwendet werden; bevorzugt sind Cyclosporin A und Cyclosporin G sowie das Cyclosporin-Derivat SDZ IMM 125.

Als natürliche Öle können verwendet werden Sojaöl, Distelöl (Saffloröl), Kokosöl (MCT-Öle), Fischöle, Maiskeimöl, Olivenöl etc.. Bevorzugt ist Sojaöl. Das verwendete Öl muß möglichst frei von Peroxiden sein. Das aus dem Stand der Technik bekannte Poly(oxyethylen)-40-Rizinusöl ist ein synthetisches Derivat und
10 kann erfindungsgemäß nicht verwendet werden.

Das verwendete Cyclosporin, z.B. Cyclosporin A, wird zunächst in dem Öl, z.B. Sojaöl, gelöst, wobei im allgemeinen die Konzentration des Cyclosporins im Öl zwischen 0,2 - 7,0 Gewichtsprozent, bevorzugt zwischen 1 - 5 Gewichtsprozent, liegt. Das Lösen geschieht in bekannter Weise durch Einrühren des Cyclosporins in das Öl. Es sollte darauf geachtet werden, daß dabei das Vorhandensein von Sauerstoff
15 ausgeschlossen wird, um eine Oxidation zu vermeiden.

Zu der Cyclosporin-haltigen, öligen Lösung wird nun sauerstofffreies Wasser gegeben sowie als Emulgator 3-sn-Phosphatidylcholin, bevorzugt in Form von Eilecithin und/oder Sojalecithin. Auf 100 Teile Öl werden dabei im allgemeinen 4 - 20 Teile des 3-sn-Phosphatidylcholins gegeben.

Besonders bevorzugt ist Eilecithin mit einem Gehalt von 3-sn-Phosphatidylcholin von 60 - 85%. Das 3-sn-Phosphatidylcholin kann auch teilweise hydriert sein.
20

Als Lieferanten des 3-sn-Phosphatidylcholins, des teilhydrierten 3-sn-Phosphatidylcholins oder hydrierten 3-sn-Phosphatidylcholins werden Eilecithin und/oder Sojalecithin bevorzugt, insbesondere Eilecithin. Geeignet sind vor allem Lecithine mit einem Gehalt von mehr als 60% 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder teilhydriertem 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder hydriertem 3-sn-Phosphatidylcholin.

25 Gegebenenfalls kann außerdem ein Alkalisalz einer freien Fettsäure mit 6- 26 Kohlenstoffatomen zugegeben werden, um den pH-Wert auf 5- 9 einzustellen und die Emulgierung und spätere Homogenisierung zu erleichtern. Bevorzugt sind die Natrium- bzw. Kalisalze der Palmitinsäure, Palmitoleinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure.

Das Gemisch, welches nun Cyclosporin, natürliches Öl, 3-sn-Phosphatidylcholin, Wasser und gegebenenfalls ein Alkalisalz einer freien Fettsäure enthält, wird nun mit Wasser soweit verdünnt, daß das Öl 5- 40 % des Gesamtgewichts beträgt.
30

Es wird nun durch starkes Rühren, bevorzugt mit einem Ultra-Turrax, eine Rohemulsion hergestellt.

Um sicherzustellen, daß die Lösung blutisoton ist, kann gegebenenfalls Glycerin und/oder Sorbit und/oder Xylit in entsprechender Menge zugegeben werden.

35 Diese Rohemulsion wird nun in einem Hochdruck-Homogenisator bei Drucken zwischen 100 - 500 bar so lange, unter Umständen mehrmals, homogenisiert, bis man eine Emulsion erhält, bei der die Partikelgröße aller Partikel unter 4 Mikron liegt, bevorzugt unter 1,5 Mikron (98 % aller Teilchen).

Danach wird die Emulsion durch Zugabe von Wasser auf die gewünschte Konzentration verdünnt. Anschließend wird die Emulsion in geeignete Behältnisse, z.B. in Flaschen oder Ampullen, abgefüllt und
40 hitzesterilisiert.

Üblicherweise und vorzugsweise liegt das in der intravenös anwendbaren Arzneiform enthaltene Cyclosporin in vollständig gelöster Form vor. Dabei ist das Cyclosporin, gelöst in Öl, im Inneren eines Fettpartikels enthalten, wobei das Öl mit einer Hülle, bestehend im wesentlichen aus Phospholipid (3-sn-Phosphatidylcholin), umgeben ist. Es ist jedoch auch möglich, das Cyclosporin bei der Herstellung in so
45 hoher Konzentration anzuwenden, daß nur ein Teil des Cyclosporins gelöst vorliegt, ein anderer Teil sich jedoch in fester Form im Inneren des Fettpartikels befindet. Wegen der das Fettpartikel umgebenden Hülle, welche das feste Cyclosporin nicht durchdringen kann, kann somit sogar festes Cyclosporin infundiert werden.

Die beiliegende Abbildung 1 zeigt in schematischer Form den Aufbau der erfindungsgemäßen, Cyclosporin enthaltenden Fettpartikel.
50

Die Herstellung solcher Arzneiformen geschieht nach dem erfindungsgemäßen Verfahren dergestalt, daß das erfindungsgemäß verwendete Öl auf beispielsweise ca. 50 - 70 °C erwärmt und dann Cyclosporin in einer Menge zugegeben wird, so daß eine bei dieser höheren Temperatur fast gesättigte Lösung entsteht; dann wird entsprechend dem erfindungsgemäßen Verfahren die erfindungsgemäße intravenöse
55 Arzneiform hergestellt.

Bei längerer Lagerung bei Zimmertemperatur oder tieferen Temperaturen kann ein Teil des ursprünglich eingesetzten Cyclosporins ausfallen. Dieses ausgefallene mikrokristalline Cyclosporin bleibt jedoch im Fettpartikel und dringt nicht als fester Kristall in die wäßrige Phase ein. Damit lassen sich hochkonzentrierte

erfindungsgemäße Arzneiformen herstellen, die insbesondere als vor der Anwendung zu verdünnende Konzentrate geeignet sind.

Die folgenden Ausführungsbeispiele beschreiben die erfindungsgemäße Mischung und das Verfahren zu ihrer Herstellung im einzelnen. Die Erfindung ist jedoch nicht hierauf beschränkt.

5

Beispiel 1

10,0 kg winterisiertes Sojaöl (neutraler pH-Wert, peroxidfrei) wird mit Stickstoff begast und unter Rühren und weiterem Begasen mit Stickstoff auf ca. 50 °C erwärmt. Unter winterisiertem Sojaöl wird Sojaöl
10 verstanden, das vor der Anwendung auf unter -10 °C abgekühlt wird, damit in der Kälte unlösliche Anteile ausfallen, die abfiltriert werden.

Zu diesem Sojaöl werden nun 400 g Cyclosporin A gegeben und unter Rühren gelöst.

In ein zweites Gefäß werden 2,5 kg Glycerin gegeben sowie 10 l Wasser. Es wird mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt unter 0,5 mg/l liegt.

15 Es werden 1,2 kg Eilecithin (Jodzahl 60 - 70) mit einem Gehalt von ca. 80 % 3-sn-Phosphatidylcholin und ca. 12 % Phosphatidylethanolamin (Kephalin) zugegeben sowie 40 g Natriumoleat.

Durch starkes Rühren mit einem Ultra-Turrax wird bei einer Temperatur von ca. 50 °C eine Rohemulsion hergestellt.

Nun wird das Sojaöl mit dem darin gelösten Cyclosporin A durch ein fettresistentes Entkeimungsfilter
20 mit einer Porengröße von ca. 50 Mikron in dieses zweite Gefäß überführt und weitere 10 Minuten bei ca. 50 °C mit einem Ultra-Turrax stark gerührt. Der pH-Wert wird überprüft und sollte zwischen 5 und 9 liegen bevorzugt zwischen 7,0 - 8,5. Ist dies nicht der Fall, wird gegebenenfalls noch etwas Natriumoleat zugegeben.

Die erhaltene Rohemulsion wird durch ein Edelstahlfilter (Porengröße zwischen 5 - 50 Mikron) filtriert
25 und anschließend mit einem 2-Stufen-Hochdruck-Homogenisator mit 3 Kolben homogenisiert (1. Stufe 100 bar, 2. Stufe 400 bar). Der erforderliche Homogenisierdruck wird dabei mit Wasser für Injektionszwecke aufgebaut, nicht mit der Rohemulsion, um Verschmutzung und Abscheidung von Öltröpfchen zu vermeiden.

Der Vorgang der Homogenisierung wird so oft wiederholt, bis die gewünschte Partikelgröße erreicht ist. Kein Partikel darf größer als 4 Mikron sein. Im Mittel beträgt der Durchmesser der Partikel 0,2 - 0,6 Mikron.

30 Um eine gut anwendbare Partikelgröße zu erreichen, ist es im allgemeinen nötig, den Vorgang der Homogenisierung vier Mal zu wiederholen. Nach jedem Homogenisierungsvorgang sollte die Emulsion auf 30 - 50 °C abgekühlt werden.

Die Emulsion wird in 57 l sauerstoff-freies Wasser ad injectabilia gegeben. Es wird nochmals mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt unter 0,5 mg/l liegt.

35 18,5 l Wasser ad injectabilia werden als Nachwasser bei 400 bar durch den Homogenisator gegeben und dann zu obiger Gesamtmenge zugefügt. Der gesamte Ansatz wird weiter mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt unter 0,5 mg/l liegt. Vor der Abfüllung in Glasflaschen wird durch ein Edelstahlfilter mit einer mittleren Porengröße von 5 Mikron filtriert. Dabei sollte der Filtrationsdruck 0,2 bar nicht übersteigen, damit ein Brechen der Emulsion verhindert wird.

40 Die Partikelgröße und die Partikelverteilung werden unter einem Mikroskop oder einem Coulter Counter bestimmt. Die Partikelverteilung beträgt:

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
< 0,2 Mikron	34 %
0,2 - 0,5 Mikron	43 %
0,5 - 0,9 Mikron	14 %
0,9 - 1,2 Mikron	6 %
1,2 - 1,9 Mikron	2 %
1,9 - 2,2 Mikron	unter 1 %
2,2 - 2,5 Mikron	unter 1 %
2,5 - 3,2 Mikron	unter 1 %
> 3,2 Mikron	unter 1 %

55 Die Emulsion wird in 100 ml-Glasflaschen abgefüllt. Die Flaschen werden vor der Abfüllung mit Stickstoff begast. Dabei ist es vorteilhaft, den verwendeten Stickstoff auf minus 20 - 30 °C abzukühlen, damit der Stickstoff leichter auf den Boden der Flasche sinkt. Auch während des Abfüllvorganges sollten die Flaschen weiterhin mit Stickstoff begast werden.

EP 0 570 829 A1

Die erhaltene Emulsion wird hitzesterilisiert bei 121 °C für 20 Minuten. Vorteilhaft wird dabei ein sogenannter Rotationsautoklav verwendet, in dem die Flaschen während der Sterilisation langsam über Kopf rotieren. Dadurch wird die zum Abfüllen und Abkühlen notwendige Zeit vermindert und vermieden, daß sich die Partikelgröße ändert. Man erhält eine sterile, intravenös anwendbare Emulsion mit einem Gehalt von 400 mg Cyclosporin A/100 ml. Die Partikelverteilung nach der Sterilisation ist wie folgt angegeben:

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
< 0,2 Mikron	25 %
0,2 - 0,5 Mikron	46 %
0,5 - 0,9 Mikron	19 %
0,9 - 1,2 Mikron	6 %
1,2 - 1,5 Mikron	2 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %
1,9 - 2,2 Mikron	unter 1 %
2,2 - 3,2 Mikron	unter 1 %
> 3,2 Mikron	0 %

Die so erhaltene sterile Emulsion kann langsam über 2- 6 Stunden bei Patienten infundiert werden, wobei dann insgesamt 400 mg Cyclosporin A als therapeutisch optimale Höchstdosis infundiert wird. Die Infusionslösung enthält pro 100 ml:

Cyclosporin A:	400 mg
Sojaöl:	10 g
Eilecithin:	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	40 mg
sowie Wasser ad	100 ml

Beispiel 2

Das Verfahren des Beispiels 1 wird wiederholt, wobei statt des Sojaöls ein Fischöl-Konzentrat, das 18 % Eicosapentaensäure und 12 % Docosahexaensäure enthält, verwendet wird. Man erhält eine pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Applikation mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml:

Cyclosporin A:	400 mg
Fischöl-Konzentrat :	10 g
Eilecithin:	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	40 mg
Wasser ad injectabilia ad	100 ml

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
0,2 Mikron	ca. 25 %
0,2 - 0,5 Mikron	ca. 46 %
0,5 - 0,9 Mikron	ca. 19 %
0,9 - 1,2 Mikron	ca. 6 %
1,2 - 1,5 Mikron	ca. 2 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %
1,9 - 2,2 Mikron	unter 1 %

Beispiel 3

Das Verfahren des Beispiels 1 wird wiederholt, wobei jedoch pro 10 kg Sojaöl 250 g Cyclosporin A eingewogen werden.

- 5 Man erhält eine pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Applikation mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml:

Cyclosporin A:	250 mg
Sojaöl:	10 g
Eilecithin:	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	40 mg
Wasser ad injectabilia ad	100 ml

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
0,2 Mikron	ca. 24 %
0,2 - 0,5 Mikron	ca. 58 %
0,5 - 0,9 Mikron	ca. 16 %
0,9 - 1,2 Mikron	ca. 2 %
1,2 - 1,5 Mikron	unter 1 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %

Beispiel 4

Das Beispiel 1 wird wiederholt, wobei statt des in Beispiel 1 verwendeten Eilecithins ein Eilecithin mit einem Gehalt an 3-sn-Phosphatidylcholin von ca. 70% und einem Gehalt an Kephalin von ca. 20 % verwendet wird. Statt 40 mg Natriumoleat werden 50 mg Natriumoleat verwendet. Man erhält eine pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Anwendung mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml:

Cyclosporin A:	400 mg
Sojaöl:	10 g
Eilecithin:	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	50 mg
Wasser ad injectabilia ad	100 ml.

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
0,2 Mikron	ca. 30 %
0,2 - 0,5 Mikron	ca. 49 %
0,5 - 0,9 Mikron	17 %
0,9 - 1,2 Mikron	3 %
1,2 - 1,5 Mikron	unter 1 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %

Beispiel 5

Das Beispiel 1 wird wiederholt, wobei anstelle des Eilecithins ein teilhydriertes Eilecithin mit ca. 80 % teilhydriertem 3-sn-Phosphatidylcholin mit einer Jodzahl von 35 (Beispiel 1 : Jodzahl 60 - 70) eingesetzt wird

EP 0 570 829 A1

sowie 50 g Natriumoleat. Man erhält eine pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Anwendung mit folgender Zusammensetzung pro 100 ml.

Cyclosporin A:	400 mg
Sojaöl:	10 g
Eilecithin (teilhydriert):	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	50 mg
Aqua ad injectabilia ad	100 ml

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
0,2 Mikron	ca. 10 %
0,2 - 0,5 Mikron	ca. 63 %
0,5 - 0,8 Mikron	ca. 23 %
0,8 - 1,2 Mikron	ca. 4 %
1,2 - 1,5 Mikron	unter 1 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %
1,9 - 2,2 Mikron	unter 1 %
2,2 - 3,2 Mikron	unter 1 %
> 3,2 Mikron	0 %

Beispiel 6

Das Beispiel 1 wird wiederholt, wobei statt des Eilecithins Sojalecithin mit einem Gehalt von ca. 75 % 3-sn-Phosphatidylcholin eingesetzt wird.

Beispiel 7

10,0 kg winterisiertes Sojaöl wird mit Stickstoff begast und unter Rühren auf ca. 50 - 60 °C erwärmt. Eine Bestimmung der freien Fettsäuren im Sojaöl ergab einen Gehalt an freien Fettsäuren von 2,5 meq/l. Der pH-Wert liegt bei ca. 3,5 - 4,5.

Es werden 500 g Cyclosporin A zugegeben und unter Rühren gelöst. Es werden 10 l Wasser ad injectabilia, 2,5 kg Glycerin und 1,0 kg Eilecithin mit einem Gehalt an ca. 75 % 3-sn-Phosphatidylcholin bei einer Temperatur von ca. 50 °C zugegeben. Es wird durch heftiges Rühren, bevorzugt mit einem Ultra-Turrax, eine Rohemulsion hergestellt. Es wird durch Zugabe einer 10 %igen Natriumhydroxidlösung ein pH-Wert von 7,5 - 8,5 eingestellt.

Die Rohemulsion wird durch ein Edelstahlfiltrat mit einer Porengröße von ca. 30 Mikron filtriert.

Anschließend wird mit einem 2-Stufen-Hochdruck-Homogenisator mit drei Kolben (1. Stufe 100 bar; 2. Stufe 450 bar) homogenisiert. Der erforderliche Homogenisierdruck wird mit Wasser ad Injectabilia aufgebaut.

Der Homogenisierungsvorgang wird insgesamt vier Mal bei einer Temperatur von 30- 60 °C durchgeführt.

Zu der Emulsion werden 10 l Wasser ad Injectabilia gegeben und unter Rühren mit Stickstoff so lange begast, bis der Sauerstoffgehalt kleiner als 0,5 mg/l beträgt. 6,5 l Wasser ad injectabilia werden nun als Nachwasser bei 450 bar durch den Homogenisator gegeben und zur Gesamtmenge zugefügt. Es wird weiter mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt unter 0,5 mg/l liegt.

Es wird durch ein Edelstahlfiltrat mit einer mittleren Porenweite von 5 Mikron filtriert, wobei darauf geachtet wird, daß der Filtrationsdruck nicht über 0,2 bar liegt.

Die Emulsion wird in Ampullen zu 20 ml abgefüllt und bei 120 °C für 20 Minuten sterilisiert.

Eine Untersuchung der Partikelgröße ergab folgende Verteilung

Partikelgröße	Zahl der Partikel
< 0,2 Mikron	24 %
0,2 - 0,5 Mikron	, 58 %
0,5 - 0,9 Mikron	16 %
1,2 - 1,5 Mikron	unter 1 %
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %
> 2,0 Mikron	0 %

Die erhaltene pharmazeutische Zubereitung zur intravenösen Anwendung enthält pro Ampulle (20 ml) 250 mg Cyclosporin A. Vor der Anwendung wird der Inhalt der Ampulle durch Zugabe zu einer handelsüblichen 10 %igen Fettemulsion im Verhältnis 1:5 bis 1:10 verdünnt und langsam infundiert.

Beispiel 8

Das Beispiel 7 wird wiederholt, wobei jedoch statt 500 g Cyclosporin A, 250 g Cyclosporin A plus 250 g Cyclosporin G eingesetzt werden.

Eine Ampulle zu 20 ml enthält dann 125 mg Cyclosporin A und 125 mg Cyclosporin G.

Beispiel 9

Eine Cyclosporin enthaltende pharmazeutische Zubereitung wird, wie im Beispiel 1 beschrieben, hergestellt, wobei jedoch statt des Cyclosporins A 150 g von SDZ IMM 125, ein Hydroxyethylderivat des D-Serin-8-Cyclosporins, eingesetzt wird. Die Herstellung und die Struktur von SDZ IMM 125 sind beschrieben in G. Baumann et al., Transplantation Proceedings Volume 24, No. 4, Suppl. 2, (1992), Seite 43-48, sowie P.C. Hiestand et al., Transplantation Proceedings Vol. 24, No. 4, Suppl. 2, Seite 31-38 (1992). Man erhält eine sterile, intravenös anwendbare Emulsion mit einem Gehalt von 150 mg des beschriebenen Cyclosporin-Derivats pro 100 ml Emulsion.

Patentansprüche

1. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung, dadurch gekennzeichnet,

daß sie ein oder mehrere Cyclosporin(e), ein oder mehrere natürliche Öle, 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Wasser enthält.

2. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

daß zusätzlich pharmazeutisch verträgliche freie Fettsäuren und/oder Alkalisalze freier Fettsäuren enthalten sind.

3. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,

daß das Cyclosporin ein natürliches und/oder ein synthetisches Cyclosporin und/oder ein Cyclosporin-Derivat ist, bevorzugt ein Cyclosporin A und/oder ein Cyclosporin G und/oder das Cyclosporin-Derivat SDZ IMM 125.

4. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, daß das 3-sn-Phosphatidylcholin in Form von 3-sn-Phosphatidylcholin-enthaltenden Substanzen vorliegt und daß vorzugsweise die 3-sn-Phosphatidylcholin-enthaltende Substanz Eilecithin oder Sojalecithin (Sojaphosphatid) ist.

5. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, daß das verwendete 3-sn-Phosphatidylcholin teilweise hydriert oder vollständig hydriert ist und daß

vorzugsweise das teilweise hydrierte 3-sn-Phosphatidylcholin in der Form von teilweise hydriertem Sojalecithin oder teilweise hydriertem Eilecithin verwendet wird, wobei vorzugsweise das Eilecithin mindestens 60 Gew.-% 3-sn-Phosphatidylcholin, bevorzugt zwischen 60 - 85 Gew.-%, enthält.

- 5 6. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Gehalt an 3-sn-Phosphatidylcholinen in der pharmazeutischen Zubereitung 0,3 - 4, bevorzugt 0,6 - 2,4 Gew.-% beträgt und daß der Gehalt der die 3-sn-Phosphatidylcholine enthaltenden Substanzen
10 in der pharmazeutischen Zubereitung 0,5 - 6,5, bevorzugt 1 - 4 Gew.-%, beträgt.
7. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
15 daß als natürliche Öle Sojaöl und/oder Distelöl und/oder mittelkettige Triglyceride (z.B. Kokosöl), und/oder Maiskeimöl und/oder Weizenkeimöl und/oder Sonnenblumenöl und/oder Olivenöl und/oder Fischöl verwendet werden und daß vorzugsweise das natürliche Öl weitgehend frei von Peroxiden ist.
- 20 8. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Konzentration der Cyclosporine im Öl zwischen 0,2 - 7,0 Gew.-%, bevorzugt zwischen 1 - 5 Gew.-%, liegt.
- 25 9. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß das natürliche Öl in einem Anteil von 5 - 40 %, bevorzugt in einem Anteil von 10 - 30 %, des Gesamtgewichts in der pharmazeutischen Zubereitung vorliegt.
30
10. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß als pharmazeutisch verträgliche freie Fettsäuren gesättigte und/oder ungesättigte Fettsäuren
35 und/oder deren Alkalisalze, bevorzugt mit 6- 26 Kohlenstoffatomen, enthalten sind, wobei vorzugsweise als pharmazeutisch verträgliche, freie Fettsäuren Palmitinsäure und/oder Palmitoleinsäure und/oder Linolsäure und/oder Linolensäure und/oder deren Alkalisalze verwendet werden.
- 40 11. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Gehalt an freien Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen 0,01 - 0,15 Gew.-%, bevorzugt 0,02 - 0,06 Gew.-%, beträgt.
- 45 12. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Gehalt an Wasser in der pharmazeutischen Zubereitung 60 - 95 Gew.-% , bevorzugt 70 - 90 Gew.-%, beträgt.
50
13. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
daß die pharmazeutische Zubereitung zusätzlich Glycerin in einer solchen Menge enthält, die geeignet
55 ist, um die pharmazeutische Zubereitung isoton zu machen.
14. Cyclosporin(e) enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,
daß die in den natürlichen Ölen gelösten Cyclosporine im Inneren von aus natürlichen Ölen bestehenden Fettpartikeln eingeschlossen, von einer Hülle aus 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin umgeben und in Wasser emulgiert sind. ,

S

15. Verfahren zur Herstellung der Cyclosporin(e) enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche.

dadurch gekennzeichnet,

10

daß die Cyclosporine in natürlichen Ölen gelöst und anschließend mit 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Wasser in an sich bekannter Weise emulgiert werden.

16. Verfahren nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet,

15

daß die Cyclosporine vor der Emulgierung in dem natürlichen Öl vollständig gelöst und anschließend mit Hilfe von 3-sn-Phosphatidylcholinen und/oder freien Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen in Wasser zu einer Rohemulsion emulgiert werden und das Gemisch anschließend zu einer Emulsion, bevorzugt mit einer Partikelgröße von weniger als 4 µm, insbesondere unter 1,5 Mikron, homogenisiert wird.

20

17. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß das Gemisch aus Cyclosporinen, natürlichen Ölen, 3-sn-Phosphatidylcholin und Wasser bereits 0,01 - 0,15 % an freien natürlichen Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen enthält und dieses Gemisch mittels einer Alkalilauge vor der Emulgierung auf einen pH-Wert von 5-10, bevorzugt 7 - 9, eingestellt wird.

25

18. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

30

daß die Fettsäuren und/oder deren Alkalisalze verwendet werden, um die Emulsion auf einen pH-Wert von 5- 10, bevorzugt 7,0 - 9,0, einzustellen.

19. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

35

daß zur Herstellung der pharmazeutischen Zubereitung im wesentlichen sauerstofffreie Lösungen verwendet werden.

20. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

40

daß zusätzlich pharmazeutisch verträgliche gesättigte und/oder ungesättigte Fettsäuren und/oder Alkalisalze der Fettsäuren verwendet werden.

21. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

45

daß zusätzlich Glycerin in einer Menge verwendet wird, die geeignet ist, die pharmazeutische Zubereitung isoton zu machen.

22. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

50

daß durch intensives Rühren zunächst eine Rohemulsion hergestellt wird und anschließend die endgültige Emulgierung in einem Hochdruck-Homogenisator bei Drücken zwischen 100 - 500 bar erfolgt, wobei vorzugsweise der Hochdruck-Homogenisator mindestens drei Kolben besitzt.

23. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

55

daß die Sterilisation der pharmazeutischen Zubereitung durch Hitzesterilisation in einem Rotationsautoklaven erfolgt.

24. Verwendung der pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche zur intravenösen Applikation, vorzugsweise zur intravenösen Injektion und/oder Infusion.

5

10

15

20

25

30

35

40

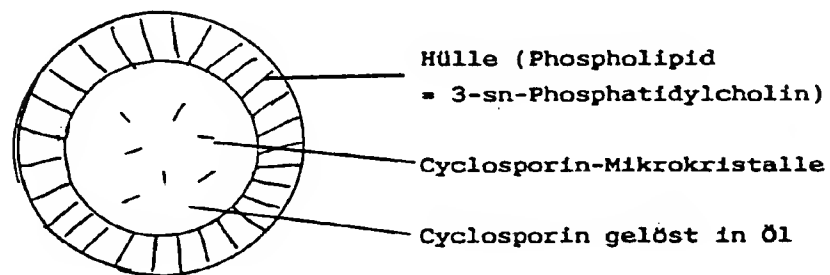
45

50

55

Abbildung 1

Schematische Darstellung der erfindungsgemäßen, Cyclosporin(e) enthaltenden Fettpartikel.





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 93 10 7728
Seite 1

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
X	EP-A-0 361 928 (SHISHEIDO COMPANY LIMITED) * Ansprüche; Beispiel 14 * ---	1-24	A61K37/02 A61K9/107
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 8651, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B05, AN 86-335072 & JP-A-61 249 918 (H. MIZUSHIMA) * Zusammenfassung *	1-24	
P, X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9243, Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B05, AN 92-352740 & JP-A-4 253 907 (GREEN CROSS CORP.) 9. September 1992 * Zusammenfassung *	1-24	
X	SCAND. J. IMMUNOL. Bd. 35, Nr. 2, Februar 1992, Seiten 231 - 236 A. TIBELL 'Cyclosporine A in fat emulsion carrier: Immunosuppressive effect in vitro.' * das ganze Dokument *	1-24	
X	BIOPHARM. DRUG DISPOS. Bd. 12, Nr. 6, 1991, Seiten 457 - 466 A. K. SHAH 'Effect of co-administration of Intralipid (TM) on the pharmacokinetics of cyclosporine in the rabbit.' * das ganze Dokument *	1-24	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5)
			A61K
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 10 SEPTEMBER 1993	Prüfer ORVIZ DIAZ P.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung als allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EP FORM 100 (01/93)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 93 10 7728
Seite 2

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. CL.5)
X	J. PHARM. SCI. Bd. 79, Nr. 3, 1990, Seiten 216 - 219 S. VENKATARAM 'Pharmacokinetics of two alternative dosage forms of cyclosporine: Liposomes and Intralipid.' * das ganze Dokument *	1-24	
X	J. MICROENCAPSULATION Bd. 6, Nr. 2, 1989, Seiten 161 - 164 A. YANAGAWA 'Selective transfer of cyclosporin of thoracic lymphatic systems by the application of lipid microspheres.' * das ganze Dokument *	1-24	
X	TRANSPLANTATION Bd. 29, Nr. 5, 1980, Seiten 361 - 366 W.P. HOMAN 'Studies on the immunosuppressive properties of cyclosporin A in rats receiving renal allografts.' * das ganze Dokument *	1-24	
A	DRUGS EXP. CLIN. RES. Bd. 11, Nr. 9, 1985, Seiten 595 - 600 Y. MIZUSHIMA 'Lipid microspheres as novel drug carriers.' * das ganze Dokument *	1-24	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. CL.5)
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 10 SEPTEMBER 1993	Prüfer ORVIZ DIAZ P.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur I : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

EPO FORM 1503 (12.12.1992) (P/9401)